

УДК 636.09:615.371:636.2:636.4

ХАРЧЕНКО Н.М., аспірант

УШКАЛОВ В.О., д-р вет. наук, чл.-кор. НААН України

Державний науково-контрольний інститут біотехнології

і штабів мікроорганізмів, м. Київ

nataliyakharchenko@yandex.ru

ДИНАМІКА ДЕЯКИХ ПОКАЗНИКІВ ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ТА СИСТЕМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ НА ФОНІ ЗАСТОСУВАННЯ ПОЛІКОМПОНЕНТНОЇ ІНАКТИВОВАНОЇ ВАКЦИНИ «ПОРЦИЛІС ПОРКОЛІ ДИЛЮВАК ФОРТЕ» (*PORCILIS PORCOLI DILUVAC FORTE*)

У статті наведено результати імунобіохімічних показників у свиноматок за використання інактивованої вакцини «Порциліс Порколі ДФ». Отримані результати досліджень дають підставу стверджувати, що цей біологічний препарат не є токсичним та володіє добрими імуногенними властивостями. Підтвердженням цього є збільшення кількості глобулінів на 9,2% на 28-й день дослідження у порівнянні з початком досліду та на 20,7% з контрольною групою свиней ($p < 0,05$); лізоцимної активності відповідно на 6,8 і 11,2% та циркулюючих імунних комплексів у сироватці крові свиноматок дослідної групи. Особливо слід звернути увагу на кількість ЦІК, рівень яких на 14-й день дослідження збільшився на 20,0%, порівняно з вихідними даними, що є свідченням активації систем комплементу та В-лімфоцитів.

Ключові слова: загальний білок, глобуліни, ЦІК, серомукоїди, лізоцимна активність, імунна реактивність організму, безпечність вакцин.

Постановка проблеми. Серед численних хвороб тварин – інфекційні спричиняють найбільш серйозні економічні збитки, а захворювання новонароджених тварин, що перебігають із симптомокомплексом розладу функції шлунково-кишкового тракту, залишаються однією з найболючіших проблем промислового тваринництва багатьох країн світу. Профілактика захворювань тварин, обумовлена дією патогенних ешерихій, в першу чергу має бути спрямована на формування життєздатного приплоду в період внутрішньоутробного розвитку та підвищення рівня резистентності у новонароджених тварин, тому необхідно застосовувати науково обґрунтовані комплексні профілактичні заходи, серед яких одне з провідних місць займає вакцинопрофілактика [1].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Вітчизняними вченими для профілактики окремих факторних хвороб, в тому числі і колибактеріозу, запропонована асоційована вакцина «Пасако» [2]. Виробничими дослідженнями підтверджено виражену профілактичну ефективність субодиночної вакцини проти колибактеріозу на основі факторів патогенності збудника, а також можливість і доцільність її використання з метою специфічної профілактики цієї інфекції у молодяку сільськогосподарських тварин різних видів [3]. Проте у разі застосування вакцин, крім позитивної дії (набутий імунітет), можуть бути і негативні наслідки у вигляді різних побічних дій, зокрема, виникнення імуносупресорного синдрому та посилення інтенсивності процесів ПОЛ [4], що може спричинити деструктивні процеси на клітинному рівні [5, 6].

Мета і завдання дослідження – вивчення динаміки змін показників природної резистентності та системи антиоксидантного захисту у разі застосування інактивованої вакцини «Порциліс Порколі ДФ» (*PORCILIS PORCOLI DILUVAC FORTE*) на організм свиней.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проводили у СТОВ «ЧАК» Чигиринського району Черкаської області. Господарство благополучне щодо різних інфекційних захворювань. Об'єктом досліджень були свиноматки дво-, трирічного віку великої білої породи, яким з профілактичною метою застосовували вакцину «Порциліс Порколі ДФ» проти колибактеріозу внутрішньом'язово в ділянці шиї у дозі 2 мл/голову за 8–12 неділів до опоросу. Загальновизнаною є схема імунізації, яка включає дво-, триразове введення вакцини проти ешерихіозу вагітним тваринам, причому останнє введення імуногену проводиться за 14–21 день до передбачуваних пологів. Така схема вакцинації забезпечує максимальне накопичення імуноглобулінів (специфічних антитіл) у молозиві тварин та їх передачу новонародженому приплоду.

Для досліду було сформовано дві групи тварин: контрольну та дослідну ($n=10$). Контрольним тваринам внутрішньом'язово ін'єктували по 2 мл 0,85 % розчину натрію хлориду. Проби крові відбирали вранці тричі: до вакцинації, через 14 та 28 днів після щеплення. Вакцинованих та кон-

трольних тварин утримували у попередньо очищених, вимитих та продезінфікованих приміщеннях. Щоденно проводили клінічне обстеження з термометрією.

Сироватки крові отримували загальноприйнятим методом відстою. Відібрану у пробірки кров розміщували у термостаті за температури 37 ± 1 °C протягом 2–3 год. Після відстоювання сироватки пробірки розміщували в побутовому холодильнику за температури 4–8 °C впродовж 1–2 год. Прозору сироватку асептично зливали у стерильні пробірки і зберігали за температури мінус $18,0 \pm 0,5$ °C до дослідження [7].

Вміст загального білка визначали рефрактометрично, а альбуміни – за реакції з бромкрезоловим зеленим. Активність лізоциму досліджували фотоелектроколориметричним методом з культурою *M. lisodecticus*. Дослідження кількості циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) середньої молекулярної маси проводили за методом Гриневича Ю.А. [8] осадженням білкових комплексів антиген-антитіло ПЕГ-6000. Вміст серомукоїдів (Sm) у сироватці крові встановлювали спектрофотометрично за різницею E за довжини хвиль 260 та 280 нм, як описано в роботі Веймера і Мошина [9], кількість продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – ДК і МДА, як описано в роботі Гаврилової В. та Мішкорудної М.[10], а АОА за методикою Г.І. Клебанової та ін. [11]. Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили за допомогою методів варіаційної статистики [12].

Результати досліджень та їх обговорення. Упродовж дослідів змін клінічного статусу у свиняток як дослідної, так і контрольної груп не спостерігали. Встановлено, що у тварин обох груп упродовж дослідів клінічний стан був задовільний, температура тіла в середньому становила $38,9 \pm 0,06$ і $39,3 \pm 0,09$ °C, частота дихання – $17,0 \pm 1,4$ і $16 \pm 1,6$ дих. рухів/хв. У процесі дослідження біохімічних показників сироватки крові свиней за умов вакцинації проти колібактеріозу отримано наступні результати. Так, на перших двох етапах досліджень (1 та 2 відбір проб крові) у свиней після щеплення не виявили суттєвих змін у білковому спектрі крові, лише наприкінці дослідів (28-й день після вакцинації) реєстрували підвищення вмісту глобулінів у сироватці крові на 9,2% у порівнянні з початком дослідів та на 20,7% з контрольною групою свиней ($p < 0,05$; табл. 1).

Таблиця 1 – Показники загального білка та його фракцій у свиней після застосування вакцини «Порциліс Порколіс»

Групи тварин	Загальний білок, г/л			Альбуміни, г/л			Глобуліни, г/л		
	до вакц.	14 дн. після вакц.	28 дн. після вакц.	до вакц.	14 дн. після вакц.	28 дн. після вакц.	до вакц.	14 дн. після вакц.	28 дн. після вакц.
Контроль (n=10)	83,2 $\pm$ 3,06	76,6 $\pm$ 2,48	79,7 $\pm$ 1,15	38,2 $\pm$ 2,22	35,3 $\pm$ 1,18	43,4 $\pm$ 2,25	45,0 $\pm$ 2,18	41,3 $\pm$ 3,68	36,3 $\pm$ 3,40
Дослід (n=10)	76,9 $\pm$ 0,83	74,2 $\pm$ 2,32	78,5 $\pm$ 1,35	33,1 $\pm$ 0,52	34,4 $\pm$ 0,46	34,7 $\pm$ 1,32	40,1 $\pm$ 0,81	39,8 $\pm$ 2,72	43,8 $\pm$ 1,19*

Примітка. * $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою та початком дослідів.

У дослідних тварин на 14-й та 28-й день після вакцинації, порівняно з початком досліджень, збільшується лізоцимна активність відповідно на 6,8 і 11,2%. У контрольних цей показник залишився без змін, що, очевидно, є свідченням підвищення фагоцитарної активності сироватки крові. Уміст серомукоїдів у дослідних тварин впродовж дослідів був на одному рівні, тоді як у контрольних на 28-й день після вакцинації їх було удвічі більше, ніж на початку дослідів ($p < 0,05$; табл. 2). Концентрація ЦІК, які корелюють із синтезом антитіл, у дослідних тварин збільшувалася: на 14-й та 28-й день після вакцинації відповідно на 20,0 і 13,3%. Таке зростання ЦІК, на наш погляд, є свідченням позитивної імунної відповіді на складові вакцини.

Таблиця 2 – Показники імунної реактивності у свиней після застосування вакцини «Порциліс Порколіс»

Групи тварин	Лізоцим, мкг/мл			Серомукоїди, мг/мл			ЦІК, мг/мл		
	до вакц.	14 дн. після вакц.	28 дн. після вакц.	до вакц.	14 дн. після вакц.	28 дн. після вакц.	до вакц.	14 дн. після вакц.	28 дн. після вакц.
Контроль (n=10)	53,0 $\pm$ 2,8	56,0 $\pm$ 1,2	58,0 $\pm$ 1,5	0,20 $\pm$ 0,01	0,26 $\pm$ 0,001	0,4 [°] $\pm$ 0,038	0,13 $\pm$ 0,004	0,15 $\pm$ 0,012	0,15 $\pm$ 0,001
Дослід (n=10)	55,6 $\pm$ 0,9	59,4 [°] $\pm$ 1,0	61,8 ^{°°°} $\pm$ 0,8	0,24 $\pm$ 0,02	0,27 $\pm$ 0,013	0,28 $\pm$ 0,02	0,15 $\pm$ 0,007	0,18 ^{°°} $\pm$ 0,007	0,17 [°] $\pm$ 0,005

Примітка. ° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; °°° $p < 0,001$ – порівняно з початком дослідів. ° $p < 0,05$; * $p < 0,05$ – порівняно з контролем.

Встановлено, що щеплення тварин вакциною проти колібактеріозу має позитивний вплив на показники АОС, зокрема, активність каталази (знешкоджує перекис водню) (рис.1), яка в дослідних тварин після першої вакцинації знизилася на 4,4, а після другої – на 6,7% у порівнянні з початком дослідження, а також підвищення АОА ліпідів сироватки крові дослідних тварин після другої вакцинації ($p < 0,01$), що вказує на відсутність реактогенних та токсичних ефектів після застосування цього вакцинного препарату на організм свиней. Очевидно, такі зміни пов'язані з водним розчином α -токоферолу ацетату, що входить до складу вакцини та сприяє реактивації ферментів антиоксидантної системи, а також зниженню рівня проміжних продуктів перекисного окиснення ліпідів і підтверджує літературні дані [13, 14, 15], що антиоксиданти різної природи позитивно впливають на біохімічні процеси в організмі тварин в цілому.

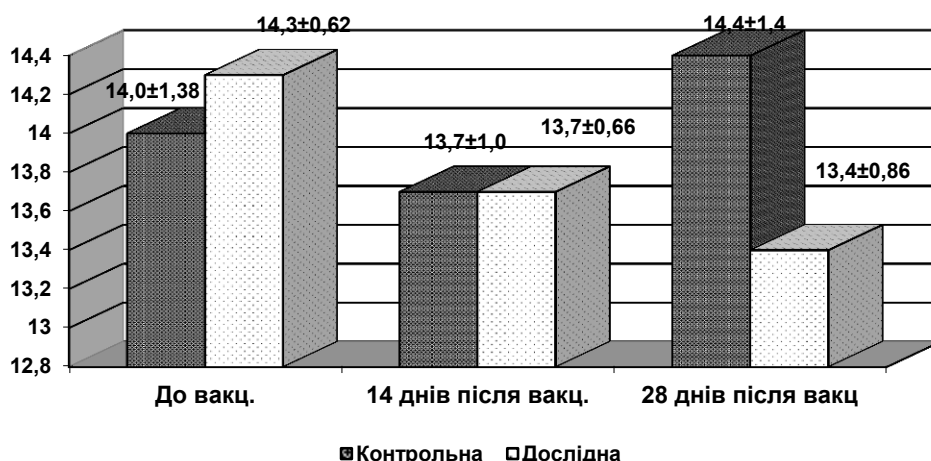


Рисунок 1 – Активність каталази у сироватці крові свиней після вакцинації
(мкмоль H_2O_2 /лхв. 10^3)

Визначено, що щеплення вакциною проти колібактеріозу навпаки істотно не впливало на процеси ПОЛ у дослідних свиней. Це підтверджують показники ДК і МДА, які у свиней дослідної групи на 28-й день після вакцинації не відрізнялися від величин контрольної. Натомість у свиней дослідної групи на 28-й день після вакцинації виявили підвищення АОА у сироватці крові, що в середньому становить $92,8 \pm 0,89\%$, що на 4,8% більше, ніж до вакцинації (табл. 3).

Таблиця 3 – Показники перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи у свиней після застосування вакцини «Порциліс Порколіс»

Групи тварин	ДК, мкмоль/л			МДА, D			АОА, % інгібіції		
	до вакц.	14 дн. після вакц.	28 дн. після вакц.	до вакц.	14 дн. після вакц.	28 дн. після вакц.	до вакц.	14 дн. після вакц.	2 дн. після вакц.
Контроль (n=10)	6,66 ± 0,32	10,87 ± 1,06	4,16 ± 0,65	1,16 ± 0,154	1,31 ± 0,19	0,59 ± 0,07	90,7 ± 0,88	88,9 ± 1,78	93,4 ± 1,95
Дослід (n=10)	4,07 ± 0,2	5,07 ± 0,38	4,06 ± 0,23	0,73 ± 0,15	0,69 ± 0,04	0,6 ± 0,04	88,0 ± 1,23	88,9 ± 0,78	92,8 ^{oo} ± 0,89

Примітки. ^{oo} $p < 0,01$ порівняно із початком дослідження.

Висновки та перспективи подальших досліджень. 1. Підсумовуючи отримані дані досліджень, слід зазначити, що біологічний вплив вакцини «Порциліс Порколіс» проти колібактеріозу на організм свиней супроводжувався зростанням кількості глобулінів (28-й день після вакцинації) та ЦІК протягом усього періоду досліджень, що вказує на формування поствакцинального імунного захисту. Препарат не проявляє токсичного впливу на організм свиноматок, про що свідчать фізіологічні величини серомукоїдів, показників ПОЛ – (ДК та МДА) та АОА сироватки крові. Очевидно, наявність водного розчину α -токоферолу ацетату, що входить до складу вакцини, позитивно впливає на біохімічні процеси в організмі тварин в цілому.

2. Подальші дослідження будуть спрямовані на вивчення змін динаміки показників природної резистентності та антиоксидантного захисту організму у молодняку сільськогосподарських тварин у разі застосування протиешерихіозних препаратів із профілактичною метою.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Головка А. М. Ешерихіоз (колібактеріоз) тварин / А. М. Головка, В.О.Ушкалов // Ветеринарна медицина України, 2004. – №2. – С.6.
2. Павлов Є. Г. Ефективність вакцин із місцевих штамів *E. coli*. в профілактиці колибактеріозу поросят / Є. Г. Павлов, О.Є. Айшпур // Ветеринарія. – 2001. – №4. – С. 44–45.
3. Головка А. Імунопрофілактика ешерихіозів тварин / А. Головка, В. Ушкалов// Ветеринарна медицина України. – 1997. – №2. – С. 18–19.
4. Droge W. Free radical in the physiological control of cell function / W. Droge// *Physiol.Rev.* – 2002. – Vol.82, №1. – P. 47–95.
5. Барабой В.А. Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. /В. А. Барабой, Д.А. Сутковский; под общ. ред. Ю.А. Зозули – К: Наук. думка, 1997. – С. 18–92.
6. Beckman K. The free radical theory of ageing matures / K. Beckman, B.N. Ames// *Physiol.Rev.* – 1998. – Vol.78, t. 2. – P. 547–581.
7. Ветеринарна клінічна біохімія/ В.І. Шевченко, В.В. Влізло, І.П. Кондрахін та ін.; За ред. В.І. Шевченка і В.Л. Галяса. – Біла Церква, 2002. – 53 с.
8. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая и др.; Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987. – С. 292.
9. Асатиани В.С. Биохимическая фотометрия /В.С.Асатиани – М.: АН СССР, 1957.– С. 473–474.
10. Гаврилова В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилова [и др.]// *Лаб. дело* – 1983.– N3. – С. 33–35.
11. Клебанов Т. И. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеинов /Т.И. Клебанов [и др.]// *Лаб. дело* – М., 1988.– N5 – С. 59–62.
12. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. /П.Ф. Рокицкий – Минск: Высшая школа, 1973. – 320 с.
13. Bendich A. Vitamin E and human immune functions/ A. Bendich// In: *Human Nutrition – A comprehensive Treatise* (ed. Klurfeld D.M.) – New York: Plenum Press, 1993. – P. 217–228.
14. Abubakar M.G. The effects of aluminium and selenium supplementation on brain and liver antioxidant status in the rat / M. G. Abubakar, A. Taylor and G. A. Ferns// *African J. of biotechnology*. – 2004. – Vol. 3, № 1. – P. 88–93.
15. Nur Azlina M. F. Effect of tocotrienol on lipid peroxidation in experimental gastritis induced by restraint stress / M. F. Nur Azlina, M. I. Nafeeza and B. A. K. Khalid // *Pakistan J. of nutrition*. – 2005. – Vol. 4, № 2. – P. 69–72.

REFERENCES

1. Golovko A. Esherihiroz (kolibakterioz) tvarin / A.Golovko, V.Ushkalov // *Veterinarna medicina Ukraïni*, 2004.–№2.– S.6.
2. Pavlov Є. G. Efektivnist' vakcin iz miscevih shtamiv *E. coli*. v profilaktici kolibakteriozu porosjat/ Є. G. Pavlov, О.Є. Ajshpur// *Veterinarija*. – 2001. – №4. – S. 44–45.
3. Golovko A. Imunoprofilaktika esherihioziv tvarin /A. Golovko, V. Ushkalov// *Veterinarna medicina Ukraïni*. – 1997. – №2. – S. 18–19.
4. Droge W. Free radical in the physiological control of cell function /W. Droge// *Physiol.Rev.* – 2002. – Vol.82, №1. – P. 47–95.
5. Baraboj V.A. Okislitel'no-antioksidantnyj gomeostaz v norme i patologii. /V. A. Baraboj, D.A. Sutkovskij; pod obshhej red. Ju.A. Zozuli – K: Nauk. dumka, 1997. – S. 18–92.
6. Beckman K. The free radical theory of ageing matures / K. Beckman, B.N. Ames// *Physiol.Rev.* – 1998. – Vol.78, t. 2. – P. 547–581.
7. Veterinarna klinichna biohimija/ V.I. Shevchenko, V.V. Vlizlo, І.P. Kondrahin ta in.; Za red. V.I. Shevchenka і V.L. Galjasa.–Bila Cerkva, 2002.–53 s.
8. Laboratorye metody issledovaniya v klinike: Spravochnik /V.V. Men'shikov, L.N. Delektorskaja, R.P. Zolotnickaja і dr.; Pod red. V.V. Men'shikova. – M.: Medicina, 1987. – S. 292.
9. Asatiani V. Biohimicheskaja fotometrija. /V. Asatiani – M.: AN SSSR, 1957. – S. 473–474.
10. Gavrilova V. Spektrofotometricheskoe opredelenie soderzhaniya gadroperekisej lipidov v plazme krovi / V. B. Gavrilova [і dr.]// *Lab. delo* – 1983.– N3. – S. 33–35.
11. Klebanov T. Ocenka antiokislitel'noj aktivnosti plazmy krovi s primeneniem zheltocnyh lipoproteinov /T.I. Klebanov [і dr.]// *Lab. delo* – M., 1988.– N5 – S. 59–62.
12. Rokickij P.F. Biologicheskaja statistika. /P.F. Rokickij – Minsk: Vysshaja shkola, 1973. – 320 s.
13. Bendich A. Vitamin E and human immune functions/ A. Bendich// In: *Human Nutrition – A comprehensive Treatise* (ed. Klurfeld D.M.) – New York: Plenum Press, 1993. – P. 217–228.
14. Abubakar M.G. The effects of aluminium and selenium supplementation on brain and liver antioxidant status in the rat / M. G. Abubakar, A. Taylor and G. A. Ferns// *African J. of biotechnology*. – 2004. – Vol. 3, № 1. – P. 88–93.
15. Nur Azlina M. F. Effect of tocotrienol on lipid peroxidation in experimental gastritis induced by restraint stress / M. F. Nur Azlina, M. I. Nafeeza and B. A. K. Khalid // *Pakistan J. of nutrition*. – 2005. – Vol. 4, № 2. – P. 69–72

Динамика некоторых показателей естественной резистентности и системы антиоксидантной защиты на фоне применения поликомпонентной инактивированной вакцины «Порцилис Порколи Дилувак Форте» (*Porcilis Porcoli Diluvac Forte*)

Н.М. Харченко, В.О. Ушкалов

В статье приведены результаты иммунобиохимических показателей у свиноматок при использовании инактивированной вакцины «Порцилис Порколи ДФ». Полученные результаты исследований дают основание утверждать, что этот биологический препарат нетоксичен и обладает хорошими иммуногенными свойствами. Подтверждением является увеличение количества глобулинов на 9,2% на 28-й день исследования по сравнению с началом опыта и на 20,7% с контрольной группой свиней ($p < 0,05$); лизоцимной активности соответственно на 6,8 и 11,2% и циркулирующих им-

мунных комплексов в сыворотке крови свиноматок опытной группы. Особенно следует обратить внимание на количество ЦИК, уровень которых на 14-й день исследования увеличился на 20,0% по сравнению с исходными данными, что является свидетельством активации систем комплемента и В-лимфоцитов.

Ключевые слова: общий белок, глобулины, ЦИК, серомукоиды, лизоцимная активность, иммунная реактивность организма, безопасность вакцин.